第3卷第4期 动物学研究 Vol.3, No.4
1982年11月 ZOOLOGICAL RESEARCH Nov., 1982

三类抗蝮蛇毒血清的聚丙烯酰胺凝胶电泳比较研究

谢占泰 童慧生 颜又珠

(华东化工学院生物化学教研组)

摘 要

用聚丙烯酰胺凝胶电泳对三种类型的抗蝮蛇毒血清作了比较研究，结果表明，精制抗蝮蛇毒血清的凝胶电泳谱显然不同于其它两者，仅显示一条明显的抗体蛋白带，而且这种抗体蛋白与正常马血清免疫球蛋白IgG相等。

自从Sewell(1887) 利用蛇毒对动物进行免疫研究以来，至今世界上已有20多个国家30多个单位用60余种毒蛇的蛇毒，研制成了单价、双价和多价的抗蛇毒血清（以下简称抗血清）80余种（Taub, 1964; Russell等, 1966; 谢占泰等, 1978、1980）。根据抗血清提纯方法的不同，大至可分为三类：1.原制抗血清（未经纯化的抗蛇毒马血清）。2.浓制抗血清（用硫酸铵盐析法浓缩而成的制品）。3.精制抗血清（经胃酶消化和硫酸铵盐析等方法提纯的制品）。然而免疫血清经不同的方法处理后，抗血清中蛋白成分变化报道较少。此外，对于抗蝮蛇毒血清中抗体的性质亦未见报道。为此，我们采用聚丙烯酰胺凝胶电泳对上述三类抗蝮蛇毒血清进行了研究。

材料和方法

1.样品：

（1）未经纯化的蝮蛇毒免疫的马血清和精制抗蝮蛇毒血清，均来自上海生物制品研究所。精制抗蝮蛇毒血清的制备方法与精制抗五步蛇毒血清的制备方法相同。

（2）浓制抗蝮蛇毒血清的制备：将未经纯化的蝮蛇毒免疫的马血清用50%饱和硫酸铵沉淀，然后离心，弃去上清液，沉淀部分对水透析后，即得所需要的浓制制品。

本文1981年11月17日收到。

（3）正常马血清IgG的制备：按“批次法”（“batch method”）制备（徐宜为，1979），即把DEAE纤维素经常规预处理后，用0.01M pH7.4的磷酸缓冲液（含0.015M NaCl）平衡。血清预先对同一缓冲液透析，然后以每2.5ml血清与30g湿重的DEAE纤维素混合，将此混合物置于4℃保持5小时后离心，得到的上清液含纯的IgG。

2.试剂：

丙烯酰胺，化学纯、上海试剂二厂产品；N,N,N',N'——四甲基乙二胺，生化试剂，前进农场试剂厂产品；三羟甲基甲烷（Tris），生化试剂，购自上海化学试剂采购供应站；硫酸铵，分析纯，上海挑浦化工厂产品；氨基醋酸，化学纯，上海试剂三厂产品；蔗糖，分析纯，上海试剂一厂产品；溴酚兰（指示剂），新中化工厂产品；氨基黑10B，上海试剂三厂产品；冰醋酸，化学纯，上海试剂一厂产品；DEAE纤维素（DEAE-Cellulose DE_{32}，Whatman）。

3.聚丙烯酰胺凝胶电泳参考Plummer（1978）方法进行。电压300V，电流强度每凝胶柱2mA，电极缓冲液贮存液用甘氨酸28.8g和Tris 6.09克加水1000ml配制而成，使用时取贮存液100ml用水稀释至1000ml，pH8.3。上述样品经适当稀释后，每凝胶柱加0.3ml（约500微克蛋白），室温下电泳3小时左右。凝胶柱用氨基黑10β染色，再用冰醋酸（7%V/V）脱色。

结果与讨论

结果如图1：用硫酸铵盐析法所制得的浓制抗蝮蛇毒血清与原制抗蝮蛇毒血清的凝胶电泳图谱差别不明显，虽然此法可将抗血清中的清蛋白除去一部份。通过精制后，即通过胃酶消化和硫酸铵盐析等处理后，则可将抗血清中的对热不稳定的非抗体蛋白与对热稳定的抗体蛋白分开，经过滤后将前者除去，而使后者保留下来。这种精制抗蝮蛇毒血清的凝胶电泳谱仅显示一条明显的蛋白带，抗血清中抗体蛋白的纯度较高。

有关抗血清中抗体的性质至今仍报道不多，仅知用银环蛇（*Bungarus multicinctus*）神经素毒甲（α-bungarotoxin）和眼镜蛇（*Naja naja atra*）神经毒素免疫家兔后，从兔抗血清中提纯的抗体性质属于IgG，用黑颈眼镜蛇（*Naja nigricolis*）毒免疫的马抗血清中的抗体为IgT（Boquet，1979）。然而我们的实验结果却是精制抗蝮蛇毒马血清的凝胶电泳谱与正常马血清免疫球蛋白IgG相等。

参 考 文 献

谢占泰，蒋克贤　1978　精制抗蝮蛇毒血清的实验研究，生物制品通讯 7：239—241.

谢占泰、蒋克贤　1980　抗蛇毒血清的研究和应用，生物制品通讯 9：160—163.

徐宜为　1979　实验免疫学技术。第168页，科学出版社。

Boquet, P. 1979 Immunological properties of snake venoms, In: Snake Venoms (Lee, C. Y. Ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.

Plummer, D. T. 1978 An Introduction to Prastical Biochemistry (second edition). P.95—98. McGraw-Hill Book company (UK) Limited, Maidenhead, Berkshire, England.

Russell, F. E., Lauritzen, L. 1966 Antivenins. Trans. R. Soc. trop. Med. Hyg. 16:797.

Taub, A. M. 1964 Antivenins available for the treatment of snake bite. *Toxicon* 2:71—77.

A COMPARATIVE STUDY OF POLYACRYLAMIDE ELECTROPHORESIS FROM THREE KINDS OF HORSE ANTIVENINS AGAINST THE VENOM OF *AGKISTRODON HALYS* (PALLAS)

Xie Zhantai, Tong Huisheng & Yan Youzhu

(Teaching Research Group of Biochemistry, East China Institute of Chemical Technology, Shanghai)

Three kinds of horse anti-sera against the venom of *Agkistrodon halys* (Palls), i.e. the crode whole serum, the antivenin purified by ammonium sulphate precipitation and the antivenin digested with pepsin and purified by ammonium sulphate precipitation were compared by polyacrylamide gel electrophoresis. the results show that the third kind of antivenin is apparently different from the other two kinds and it shows only one obvious the antibody protein band on polyacrylamide gel electrophoretic pattern. The antibody protein corresponds to the IgG of normal horse serum.